



# Evaluation of human IgG subclass antibodies in the serodiagnosis of paragonimiasis heterotremus

著者	Wongkham Chaisiri
内容記述	Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (B), no. 2179, 2006.2.28 Includes bibliographical references Includes supplementary treatises
発行年	2006
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/18125">http://hdl.handle.net/2241/18125</a>

氏 名 (国籍)	ウオンカム チャイシリ (タ イ)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 2179 号
学位授与年月日	平成 18 年 2 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科
学位論文題目	<b>Evaluation of human IgG subclass antibodies in the serodiagnosis of <i>paragonimiasis heterotremus</i></b> (ヘテロトレムス肺吸虫症の血清診断におけるヒト IgG サブクラス抗体の評価)

主 査	筑波大学教授	獣医学博士	八 神 健 一
副 査	筑波大学助教授	博士 (医学)	澁 谷 和 子
副 査	筑波大学助教授	医学博士	竹 内 薫
副 査	筑波大学講師	医学博士	正 田 純 一

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

肺吸虫症の感染者は全世界で 2,000 万人以上にのぼる。世界的にはウエステルマン肺吸虫の感染例が最も多いが、中国・ラオス及びタイ王国ではヘテロトレムス肺吸虫が主な原因である。診断は、光学顕微鏡により肺吸虫卵を糞や唾液中で確認する方法であるが、簡便ではなく他の吸虫と鑑別できる特異性もない。ヘテロトレムス肺吸虫の主要抗原としては、31.5 kDa 及び 35Kda のタンパク質が報告されているが、特異的な IgG サブタイプ抗体の存在については未だよく解っていない。本研究では、臨床診断への応用のための基礎的研究としてヘテロトレムス肺吸虫に対する特異的な IgG 抗体サブタイプを同定することを目的とした。

### (対象と方法)

#### 1) 対象者

以下の 4 群計 83 名より得た血清を使用した。Ⅰ群：ヘテロトレムス肺吸虫症と診断された 18 名。Ⅱ群：他の寄生虫感染（肝吸虫症・糞線虫症・肝蛭症・囊尾虫症・毛頭虫症・顎口虫症・広東住血線虫症、旋毛虫症）の感染者 45 名。Ⅲ群：結核患者 10 名。Ⅳ群：血液、便の検査で腸管の感染が認められない健常者 10 名。

#### 2) 抗原の調整及びウエスタンブロット解析

成熟したヘテロトレムス肺吸虫は、実験動物のネコに感染、増殖させ、ネコの肺より採取した。成熟したヘテロトレムス肺吸虫の排出・分泌抗原 (ES 抗原) の調製には、RPMI 1640 培養液で寄生虫を 37℃ で培養し、2 時間おきに培地を代えて 6 回分の培養上清を集め、膜フィルターで濃縮し、蒸留水で透析した。その溶液を 10,000xg, 30 分間遠心した上清を抗原とした。この抗原を用いて SDS 電気泳動を行い、上記の対象者の血清を 1 次抗体として反応させた後、IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 に対する抗体を 2 次抗体としてウエスタンブロットを行った。

#### (結果)

肺吸虫症のⅠ群 18 名 については、ヘテロトレムス肺吸虫卵抗原 (31.5kDa) と反応する IgG1 が 15 名 (83.3%), IgG2 が 16 名 (88.9%), IgG3 が 12 名 (66.7%), IgG4 が 18 名 (100%) であった。また、他の寄生虫感染を伴っているⅡ群では IgG サブタイプ抗体の出現頻度は様々であった。しかし、IgG4 は、肝蛭症患者 10 名中に 2 名のみににおいて弱陽性を認めた。肺結核であるⅢ群 10 名の IgG 抗体は、IgG2 が 4 名 (40%), IgG3 が 4 名 (40%) が認められ、IgG 抗体は認められなかった。また、健常者であるⅣ群では抗原に対するいずれの IgG 抗体も認められなかった。以上の結果、IgG4 を用いたウエスタンブロットの判定を用いた場合、正確度 97.6%, 感度 100%, 特異度 96.9%, 陽性予測度 90%, 陰性予測度 100% であり、これが肺吸虫症の診断に最も適していることが示された。

#### (考察)

寄生虫感染に対するそれぞれのヒトの免疫応答性は IgG 抗体サブクラスが異なることで示される。この抗体反応の違いは、感染者の遺伝的な特性及び、抗原である寄生虫の特性によるものである。今回、IgG 抗体のサブクラス特異的な試薬を用いて、IgG 抗体の抗原認識パターンが様々あることを示した。また、ヘテロトレムス肺吸虫感染特異的な IgG のサブクラスは IgG4 抗体であり、他の IgG1, IgG2, IgG3 抗体は非特異的であった。ヘテロトレムス肺吸虫由来の、31.5kDa の抗原に対する IgG4 のサブクラスを用いたイムノブロットが、他のサブクラス抗体を用いる場合よりも、最も診断価値が高いことが示された。この方法は、ヒトのヘテロトレムス肺吸虫症の診断や、その感染の広がり状況を調べるために有用であると考えられる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

中国・ラオス及びタイ王国において、ヘテロトレムス肺吸虫はヒト肺吸虫症の主な原因であり、深刻な問題となっている。本研究では、ヘテロトレムス肺吸虫症の新たな血清診断法の開発を目的として、ヘテロトレムス肺吸虫に対する特異的な IgG 抗体サブタイプを同定することを目的とした。ヘテロトレムス肺吸虫の ES 抗原とヒト IgG4 を用いたイムノブロットを行った場合、正確度 97.6%, 感度 100%, 特異度 96.9%, 陽性予測度 90%, 陰性予測度 100% となり、これが肺吸虫症の診断に最も適していることが示された。本研究は、抗原と IgG4 サブクラス抗体の特異性について未解明な点は残るが、発展途上国におけるヘテロトレムス肺吸虫症の診断に応用可能な新たな検査方法を示した点は評価できる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。